FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1925

THÈSE

N° 615

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jeanne-Marie DUBREUILH

Née le 14 Janvier 1896, Bordeaux (Gironde)

DES SÉRUMS THÉRAPEUTIQUES ÉPURÉS

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE ET CLINIQUE

Président : M. ROGER, *Professeur*

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1925

LE DOYEN. . . M. ROGER

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	NICOLAS.
Anatomie médico chirurgicale	CUNÉO.
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale	N...
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	BEZANÇON.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	Marcel LABBÉ
Pathologie médicale	SICARD.
Pathologie chirurgicale	LECENE.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	PRENANT.
Pharmacologie et matière médicale	RICHAUD.
Thérapeutique	CARNOT.
Hygiène	Léon BERNARD
Médecine légale	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER.
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER.
Clinique médicale	GILBERT. CHAUFFARD. ACHARD. WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TESSIER.
Clinique chirurgicale	DELBET. HARTMANN. LEJARS. GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE. BRINDEAU. JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
BRAMI . . .	Pathologie médica'e.
LGLAVE . .	Pathologie chirurgicale.
UBERTIN . .	Pathologie médicale.
ASSET . . .	Pa'hologie chirurgicale.
AUDOUIN . .	Pathologie médicale.
NET	Physiologie.
ANCHETIÈRE . . .	Chimie biologique.
RANCA . . .	Histologie.
RULÉ	Pathologie médicale.
USQUET . .	Pharmacologie et matière médicale.
ADENAT . .	Pathologie chirurgicale.
HAMPY . . .	Histologie.
HIRAY . . } LERC . . . }	Pathologie médicale.
EBRÉ	Hygiène.
de JONG . .	Anatomie pathologique.
UVOIR . . .	Médecine légale.
CALLE . . .	Obstétrique.
IESSINGER } OIX . . . . }	Pathologie médicale.
ARNIER. . .	Pathologie expérimentle.
ARVIER. . .	Pathologie médicale.
EITZ-BOYER	Urologie.
OVELACQUE	Anatomie.
YEUX . . .	Parasitologie.

MM	
LABBÉ (Henri).	Chimie biologique.
LARDENNOIS.	Pathologie chirurgicale.
LE LORIER. .	Obstétrique.
LEMAITRE .	Oto-rhino-laryngologie
LEMIERRE . .	Pathologie médicale.
LEVY-SOLAL.	Obstétrique.
LHERMITTE .	Pathologie mentale.
LIAN.	Pathologie médicale.
MATHIEU . .	Pathologie chirurgicale.
METZGER. . .	Obstétrique.
MOCQUOT . } MONDOR. . } MOURE. . . }	Pathologie chirurgicale
MULON	Histologie.
PHILIBERT. .	Bactériologie.
RIBIERRE . .	Pathologie médicale.
RICHET Fils .	Physiologie.
ROUVIERE . .	Anatomie.
N... . . .	Physique médicale.
TANON	Pathologie médicale.
TIFFENEAU .	Pharmacologie et matière médicale.
VAUDESCAL .	Obstétrique.
VERNE	Histologie.
VILLARET . .	Pathologie médicale.
WELTER. . .	Ophtalmologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	
AMUS	Physiologie.
OUGEROT. .	Pathologie médicale.
UÉNIOT. . .	Obstétrique.

MM.	
RETTERER. .	Histologie.
N...	Anatomie pathologique.

LE DOYEN. . . M. ROGER

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	NICOLAS.
Anatomie médico chirurgicale	CUNÉO.
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale	N...
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	BEZANÇON.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	Marcel LABBÉ
Pathologie médicale	SICARD.
Pathologie chirurgicale	LECENE.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	PRENANT.
Pharmacologie et matière médicale	RICHAUD.
Thérapeutique	CARNOT.
Hygiène	Léon BERNARD
Médecine légale	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER.
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER.
Clinique médicale	GILBERT. CHAUFFARD. ACHARD. WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TESSIER.
Clinique chirurgicale	DELBET. HARTMANN. LEJARS. GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE. BRINDEAU. JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
BRAMI . . .	Pathologie médica'e.
LGLAVE . .	Pathologie chirurgicale.
JBERTIN . .	Pathologie médicale.
ASSET . . .	Pathologie chirurgicale.
AUDOUIN . .	Pathologie médicale.
NET	Physiologie.
NCHETIÈRE . . .	Chimie biologique.
RANCA . . .	Histologie.
RULÉ	Pathologie médicale.
JSQUET . .	Pharmacologie et matière médicale.
ADENAT . .	Pathologie chirurgicale.
HAMPY . . .	Histologie.
HIRAY . . }	Pathologie médicale.
LERC . . . }	
EBRÉ	Hygiène.
de JONG . .	Anatomie pathologique.
UVOIR . . .	Médecine légale.
CALLE . . .	Obstétrique.
ESSINGER }	Pathologie médicale.
DIX . . . . }	
ARNIER. . .	Pathologie expérimentle.
ARVIER. . .	Pathologie médicale.
EITZ BOYER	Urologie.
OVELACQUE	Anatomie.
YEUX . . .	Parasitologie.

MM	
LABBÉ (Henri).	Chimie biologique.
LARDENNOIS.	Pathologie chirurgicale.
LE LORIER. .	Obstétrique.
LEMAITRE .	Oto-rhino-laryngologie
LEMIERRE . .	Pathologie médicale.
LEVY-SOLAL.	Obstétrique.
LHERMITTE .	Pathologie mentale.
LIAN.	Pathologie médicale.
MATHIEU . .	Pathologie chirurgicale.
METZGER. . .	Obstétrique.
MOCQUOT . }	Pathologie chirurgicale
MONDOR. . }	
MOURE. . . }	
MULON	Histologie.
PHILIBERT. .	Bactériologie.
RIBIERRE . .	Pathologie médicale.
RICHET Fils .	Physiologie.
ROUVIERE . .	Anatomie.
N... . . .	Physique médicale.
TANON	Pathologie médicale.
TIFFENEAU .	Pharmacologie et matière médicale.
VAUDESCAL .	Obstétrique.
VERNE . . .	Histologie.
VILLARET . .	Pathologie médicale.
WELTER. . .	Ophtalmologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	
AMUS	Physiologie.
OUGEROT. .	Pathologie médicale.
UÉNIOT. . .	Obstétrique.

MM.	
RETTERER. .	Histologie.
N...	Anatomie pathologique.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40152010_0153

A M. le Professeur ROGER

Doyen de la Faculté de Médecine de Paris

Qui nous a fait l'honneur d'accepter
la présidence de notre thèse.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

A M. le Docteur BESREDKA

Professeur à l'Institut Pasteur

AVANT-PROPOS

Nous ne voulons pas terminer nos études médicales sans exprimer nos remerciements, à ceux qui nous ont aidée de leur science et de leurs conseils.

Que Messieurs les professeurs de l'Ecole de Médecine et nos chefs de service dans les hôpitaux veuillent bien accepter l'hommage de notre reconnaissance.

Nous tenons à exprimer notre vive gratitude à M. le docteur Lesné, médecin à l'hôpital Trousseau, pour les enseignements cliniques et l'indulgence qu'il n'a cessé de nous témoigner.

Nous remercions sincèrement M. le Professeur Besredka de l'Institut Pasteur, pour les conseils qu'il nous a prodigués avec tant de bienveillance.

Merci à M. le Docteur Binet, professeur agrégé de physiologie de la Faculté pour l'amabilité dont il a usé envers nous.

Que le Docteur Vagliano avec qui nous avons travaillé, qui nous a inspiré notre thèse, et dont les avis nous furent toujours si précieux, trouve ici l'expression de nos vifs remerciements.

Monsieur le professeur Roger a bien voulu accepter la présidence de notre thèse, nous le prions de croire à notre reconnaissance et à notre profond respect.

INTRODUCTION ET HISTORIQUE

La sérothérapie est une arme dont on se sert depuis longtemps, pour combattre efficacement diverses maladies. Elle prend à l'heure actuelle de plus en plus d'importance. Nous savons cependant, qu'elle peut ne pas être inoffensive et que parfois, elle provoque des troubles immédiats, ou à distance, que l'on englobe sous le nom d'accidents sériques.

Les accidents immédiats, qui peuvent être très graves et entraîner la mort, ont été décrits sous le nom de choc anaphylactique (Besredka). Ce choc est dû, suivant certains auteurs, à la production d'un poison ; cette idée est abandonnée aujourd'hui. Pour d'autres, le choc est dû à la vitesse de réaction entre l'antigène et l'anticorps, la rencontre se faisant dans la cellule et provoquant un trouble intense de celle-ci.

Les accidents à distance, ou malade sérique, beaucoup moins impressionnants, ne sont cependant pas négligeables ; ils sont, probablement, imputables aux mêmes causes que le choc anaphylactique.

Il fallait donc trouver un moyen de modifier les sérums, de telle façon que ces troubles ne soient plus à redouter.

Ce n'est pas d'aujourd'hui que l'on a cherché à diminuer, sinon à supprimer, les accidents sériques. Les premiers expérimentateurs, Anderson et Rosenau, pensèrent à attaquer directement le poison qu'ils croyaient contenu dans le sérum et dont, selon eux, venait tout le mal. Ils essayèrent de le détruire par des alcalis, des acides, des alcaloïdes, par l'action des ferments, des rayons X, enfin par le chauffage à 60°. Tout cela fut vain, seule une température de 100° pendant 15 minutes, permit de détruire la toxicité du sérum.

Peu après, des expériences furent faites par Besredka, qui essaya l'extraction des sérums par l'éther, la précipitation par l'eau distillée, le contact prolongé avec le charbon animal, l'action du liquide de Gram, tout cela sans résultat.

Un peu plus tard, au lieu de s'attaquer au sérum, on demanda à l'animal lui-même, à l'organisme, de créer sa propre immunité.

Bien des médicaments dits antianaphylactiques furent essayés : sels de soude, hyposulfite, oléate, carbonate, peptone, chlorure de calcium.

M. Netter insista sur l'action de ce dernier, dont il se servit, pour réaliser un traitement préventif des accidents sériques. Ce médicament est employé au moment où l'on injecte le sérum, et continué pendant trois jours.

Supposant que l'anaphylaxie était due à une exagération de la sensibilité cellulaire, Besredka entreprit de supprimer celle-ci à l'aide de narcotiques.

L'expérience fut faite sur des cobayes sensibilisés,

endormis à l'éther, que l'on éprouva avec une injection intra-cérébrale de 1/4 de centimètre cube de sérum de cheval. Il n'y eut aucune réaction et une demi heure après l'injection, les animaux se réveillèrent, sans présenter aucun symptôme d'anaphylaxie.

On peut remplacer l'éther par de l'alcool. Mais, si l'on emploie, pour endormir l'animal, du chlorydrate de morphine ou de l'extrait d'opium, on n'obtient aucun résultat.

Plus tard, Besredka fut amené, après une série d'expériences, à un procédé permettant de vacciner l'animal sensibilisé contre le danger de la deuxième injection de sérum.

Nous savons que l'animal ayant reçu au cours de sa vie, une injection de sérum étranger, reste pendant plusieurs années sensibles vis à vis d'une nouvelle injection de ce sérum. Or, le procédé auquel nous venons de faire allusion permet au cobaye sensibilisé de passer très rapidement à l'état d'antianaphylaxie : il suffit de lui injecter quelque temps auparavant une faible dose de sérum.

Si, en effet, l'on prend un animal ayant reçu, il y a quelques jours ou quelques semaines, une première injection de sérum de cheval, et qu'on lui fasse, comme seconde injection, une dose de 1/40 de centimètre cube de ce même sérum sous la peau, ce qui est une dose tout-à-fait inoffensive, nous verrons l'animal la supporter sans aucun trouble. Après quelque minutes, on pourra lui injecter la dose mortelle, ou même deux fois mortelle, sans lui causer aucun dommage. Nous disons qu'un tel

animal est en état d'antianaphylaxie, la petite dose de 1/40 de centimètre cube a rempli l'office du vaccin.

L'état d'antianaphylaxie s'acquiert plus ou moins vite suivant la rapidité avec laquelle le sérum ou l'antigène, passe dans la circulation. Cette rapidité dépend du point d'injection : l'antianaphylaxie s'établit en trois heures, chez le cobaye, à la suite d'une injection sous-cutanée ; en une heure, après l'injection intrapéritonéale ; elle est quasi instantanée dans le cas d'injection intraveineuse.

Notons que la dose de 1/40 de centimètre cube, dont nous avons parlé plus haut, ne préserve que contre une ou deux doses mortelles. Chez l'homme, on est le plus souvent dans l'obligation de faire des doses massives de sérum. Une seule vaccination est donc insuffisante ; c'est alors que l'on procède à une série d'injections ou à des vaccinations subintrantes de Besredka dont voici la technique :

A quelques minutes d'intervalle — trois à cinq — on fait successivement plusieurs injections intraveineuses de sérum dont les doses vont en croissant : 1/40, 1/20, 1/4 de centimètre cube. Chaque nouvelle injection renforce la précédente, si bien que, au bout de très peu de temps, on arrive à créer un état antianaphylactique très solide. On réussit, en effet, à vacciner de cette façon, en moins de 10 minutes, contre 20 doses mortelles et davantage.

On peut réaliser l'état d'antianaphylaxie par un autre procédé, à savoir en injectant à l'animal, avant qu'il soit sensibilisé, des doses très élevées de sérum.

D'aucuns croyaient que l'état d'antianaphylaxie, une

fois acquis, était définitif. Il n'en est rien. Il peut même ne pas être de longue durée. Tout dépend de la quantité d'antigène utilisée pour la désensibilisation (Vagliano thèse 1924).

Tous ces moyens précédemment décrits, pour éviter les accidents anaphylactiques sont actuellement jugés. On a retenu parmi ceux-ci le chlorure de calcium, dont on fait un emploi systématique en clinique, et surtout les injections subintrantes. On reconnaît aussi les effets salutaires des narcotiques, particulièrement, de l'éther.

Mais, quel que soit le procédé employé, on fait appel dans tous ces cas à l'organisme, pour créer son état d'antianaphylaxie. Or, il a semblé, ces dernières années, plus rationnel d'essayer de modifier le sérum, c'est-à-dire d'agir sur l'antigène lui-même, tout en respectant les propriétés biologiques de ce dernier.

Reprenant les essais d'Anderson et Rosenau, ayant pour but de diminuer la toxité des sérums, Besredka a montré que le sérum de cheval additionné de 3 volumes d'eau distillée, chauffé à 100°, puis ramené à son volume primitif par évaporation, perdait tout son pouvoir toxique. Il a remarqué, en outre, qu'en faisant varier la température entre 60° et 100°, on obtenait une échelle de sérums de toxicité décroissante. Nulle quand le sérum est chauffé à 100°, pendant 15 minutes, la toxicité devient appréciable dans un sérum chauffé à 85° pendant 20 minutes, plus prononcée si le sérum est chauffé à 75°, elle est enfin considérable dans un sérum chauffé à 60°.

La toxicité du sérum est donc d'autant plus faible que le chauffage est plus long et plus intensif. Elle diminue

à mesure que la température monte ; elle est donc très influençable par la chaleur.

Dans cet ordre d'idées, Besredka a constaté les faits suivants, confirmés ensuite par Arthus, Gay et Southard, Kraus et Volk, Deorr et Russ.

Si l'on injecte par voie intra-cérébrale à des cobayes anaphylactisés, des doses de sérums d'une certaine toxicité, ayant été chauffés pendant 20 minutes, les uns à 95°, les autres à 89°, les troisièmes à 76°5, on obtient les résultats ci-après :

à 95°... 1/4 cc donne de très légers troubles ou même rien.
à 89°... 1/4 cc donne peu, ou pas de troubles.
à 76°5.. 1/4 cc donne des troubles anaphylactiques sérieux.

Or 1/4 de cc de ce même sérum non chauffé donne la mort. En chauffant les sérums à des températures de 58° et 60°, cet auteur a vu que l'on pouvait agir sur eux, et diminuer leur toxicité, à condition que le chauffage fût prolongé.

Avec un sérum dont la toxicité est de 1, 40 de cc pour un cobaye anaphylactisé, après chauffage à 56° pendant une heure, trois jours consécutifs, les résultats sont les suivants :

1/4 de cc..... Mort.
1/10 de cc..... Signes très graves.
1/20 de cc..... Pas de symptômes.

Si l'on chauffe à 56° le sérum pendant une heure, 5 jours consécutifs, on obtient :

avec 1/4 de cc..... Mort
avec 1/8 de cc..... Symptômes passagers.
avec 1/16 de cc..... Pas de symptômes.

Si l'on chauffe à 56° pendant une heure, 7 jours consécutifs, on constate :

avec 1/4 de cc..... Mort.
avec 1/8 de cc..... Symptômes passagers.
avec 1/16 de cc..... Pas de symptômes.

De ces expériences il ressort, que par un chauffage à 56° pendant 8 jours consécutifs, la toxicité diminue environ de 5 à 6 fois. D'autre part, si l'on prolonge le chauffage, la toxicité ne continue pas à baisser ; elle reste au même taux. Il se produit à ún certain moment, une stabilisation de la toxicité des sérums.

On possédait donc dans le chauffage un très bon moyen de rendre les sérums atoxiques ; malheureusement les propriétés thérapeutiques se trouvent détruites ou fortement endommagées par les hautes températures.

SÉRUM ÉPURÉ
PRATIQUE DE L'ÉPURATION

Nous avons vu précédemment, qu'il y avait un rapport constant entre la toxicité d'un sérum, et les modifications de son état physique liées au chauffage. La toxicité est notamment d'autant plus faible, que le degré d'opalescence est plus marqué, celle-ci étant due à la précipitation des albumines.

Il semble aujourd'hui établi que ce sont les albumines du sérum, qui suscitent les troubles anaphylactiques. Les diverses substances cristalloïdes ou autres, qui ont été incriminées, ayant une action anaphylactique bien discutable.

Si, en effet, on extrait soit par des procédés physiques, soit par des procédés chimiques, les albumines d'un sérum et que l'on injecte de ce sérum une dose suffisante à un animal, déjà sensibilisé avec du sérum initial, ce dernier ne présente aucune réaction anaphylactique.

Il en découle que le sérum privé de ses albumines perd ses propriétés toxiques.

Etant donné ceci et la nécessité de ne pas dépasser la température de 60°, le problème se ramenait à chercher

les conditions dans lesquelles on aurait la plus grande précipitation de substances protéiques. Or, il résulte des expériences de Besredka qu'une température de 58° à 60° exerce dans certaines conditions une modification de l'état physique de la molécule d'albumine du sérum, telle que cette molécule perd la capacité de se redissoudre.

Besredka et ses collaborateurs ont cherché quelle serait la dissolution la plus favorable, pour donner le plus grand rendement en albumine insoluble.

Pour cela ils prirent des quantités fixes de sérum desséché (1 gr.) auquel ils ajoutèrent des quantités croissantes d'eau distillée, de 0 cc. à 10 cc. Le sérum desséché se dissout dans l'eau dans la proportion de 1 à 10 ; la solution est d'autant plus visqueuse que l'eau est moins abondante. Les diverses solutions de sérum sont portées au coagulateur pendant une demi-heure à 60°. Une partie de l'albumine se précipite, devient insoluble : celle-ci est d'autant plus grande, que la quantité d'eau ajoutée est plus faible. Le tableau ci-après permet de s'en rendre compte.

La quantité maxima (0 gr. 53) de substance protéique ou sérum résiduel s'obtient donc avec un liquide sirupeux, composé de deux parties d'eau et de une partie de sérum.

La dilution la plus favorable est par conséquent de 1 gr. de sérum sec pour 2 gr. d'eau.

Par ce procédé, on obtient un sérum débarrassé de plus de 50 % de ses albumines ; c'est le sérum épuré.

Nous décrirons ici la technique employée par Besredka pour épurer le sérum.

Sérum desséché	Eau distillée		Sérum épuré	Sérum résiduel en gr.
1 gr.	0 cc.	Coagulateur à 60° pendant 1/2 heure	8 cc. 8	
1 gr.	2 cc.		4 cc. 2	0 gr. 53
1 gr.	4 cc.		3 cc. 9	0 gr. 33
1 gr.	6 cc.		3 cc.3	0 gr. 43
1 gr.	8 cc.		3 cc. 9	0 gr. 43
1 gr.	10 cc.		5 cc. 0	0 gr. 20

Pour redonner au sérum desséché son état initial, il faut lui ajouter 10 parties d'eau distillée. Le liquide ainsi obtenu présente alors l'aspect et les qualités du sérum normal.

Si on ajoute à du sérum desséché deux parties d'eau, au lieu de 10, on obtient un produit dont la dissolution s'effectue lentement, en 48 heures. Ce liquide est donc 5 fois plus concentré dans le sérum normal. Il a toutes les propriétés de ce dernier, mais sa température de coagulation est à 58°-60°, au lieu d'être à 70°-75°. Le coagulum, après dessication, ne se dissout que très difficilement et d'une façon très incomplète. Voici comment l'on procède :

Dans un verre stérilisé, contenant 10 cc. d'eau physiologique, on laisse tomber par petites fractions 5 gr. de sérum desséché ; on obtient sans avoir besoin d'agiter, au bout de 24 heures, un liquide sirupeux qui doit être bien homogène, sans grumeaux. On verse ce liquide dans une boîte de Pétri, en couche d'égale épaisseur, pour que l'action de la chaleur soit la même partout. On porte ensuite la boîte de Pétri au coagulateur à 58°-60°. Dans ces conditions, une grande partie d'eau de la solution sérique s'évapore, et vient former de fines gouttelettes sur les parois de la boîte de Pétri.

Au bout d'une demi-heure, on voit que le liquide est devenu consistant ; il faut cependant attendre une heure, pour que la coagulation soit complète. A ce moment, la couche de sérum doit pouvoir être coupée nettement à l'aide d'une extrémité d'un fil de fer fin. Si la coupe n'est pas nette, si le sérum se déchire il n'a pas la consistance voulue ; enfin, s'il n'est transparent, il doit être rejeté : il y a eu faute de technique.

On place ensuite la boîte de Pétri sous la cloche à vide jusqu'à ce qu'on obtienne la dessication complète. Le sérum garde la même couleur jaune citrin, la même transparence qu'avant la dessication. Il se présente sous la forme de paillettes jaune d'or ressemblant à celles du sérum normal ; mais ce nouveau sérum présente la particularité suivante, il est très peu soluble dans l'eau : 1/3 seulement de sa masse est capable de passer en dissolution.

Les paillettes sont longuement triturées dans un mor-

tier jusqu'à ce qu'on obtienne une poudre aussi fine que possible. Cette poudre est mise en flacon et additionnée d'eau dans des proportions calculées pour obtenir un sérum normal. Prenons par exemple 5 gr. de sérum sec ; chaque gramme correspondant à 10 cc. de sérum normal, il va falloir ajouter aux 5 gr., 45 cc. d'eau distillée.

On centrifuge ; les flocons d'albumine non dissous tombent au fond, un liquide clair surnage ; on répartit ce dernier en flacon : c'est le *sérum épuré de Besredka.* Celui-ci a un aspect plus fluide que le sérum normal, il est jaune clair et transparent. Pour éviter les contaminations il est bon d'ajouter à l'eau physiologique dont on se sert 0,5 o/o d'eau phéniquée.

POUVOIR TOXIQUE DES SÉRUMS ÉPURÉS

Nous sommes en possession d'un sérum épuré qui doit être moins toxique que le sérum normal puisqu'il est débarrassé de plus de 50 o/o de ses albumines.

Il fallait vérifier ce point.

Les expériences nous montrent, en effet, que le sérum coagulé est peu toxique pour l'animal sensibilisé : on peut lui en injecter sans dommage une dose 5 à 6 fois supérieure à celle nécessaire pour donner la mort avec du sérum d'origine.

Le sérum total coagulé est donc peu toxique. Si on le laisse au repos, nous savons qu'il se sépare en deux couches. La première liquide, la seconde pâteuse. On a étudié séparément le pouvoir toxique de ces deux parties du sérum. Voici les expériences et les résultats que nous empruntons au travail de Suzuki.

Cet auteur a sensibilisé plusieurs cobayes neufs à l'aide de 0 cc, 0025 de sérum de cheval, 15 jours plus tard, il leur a injecté 0 cc, 1 de sérum antidiptérique du commerce dans la carotide. Des accidents anaphylactiques typiques s'ensuivirent.

Des doses plus faibles, telles que 0 cc, 025 et 0 cc, 01 ont donné des troubles caractéristiques (toux, dyspnée,

convulsions), ne durant pas plus de 20 à 25 minutes.

Pour obtenir les mêmes effets avec le sérum coagulé, il fallait employer des doses plus fortes que celles de sérum normal. En effet, pour provoquer la mort par anaphylaxie, il a fallu injecter 0 cc, 3, et quelquefois même 0 cc, 5 de sérum épuré, c'est-à-dire une dose 5 fois supérieure à celle du sérum couramment employé.

Au point de vue de l'anaphylaxie locale, nous avons constaté en collaboration avec Vagliano, que le phénomène d'Arthus, survient chez le lapin après la 4e injection de sérum normal ; les injections consécutives font apparaître de l'amaigrissement, une plaque d'œdème local, et, un peu plus tard, de la gangrène au point d'injection. La mort survient quelques jours après.

Or, chez les lapins qui ont reçu du sérum épuré, on ne constate pas le phénomène d'Arthus, même après la 6e injection. On observe un amaigrissement progressif à partir de la 4e injection, qui aboutit à la mort vers la 7e injection.

Comment expliquer la diminution de la toxicité de ces sérums coagulés?

Nous avons déjà dit que la toxicité dépendait de l'état physique du sérum, et qu'il y avait une corrélation entre cette toxicité et le degré d'opalescence. Cela se conçoit, étant donné que les troubles anaphylactiques sont dus à la vitesse de réaction entre l'antigène et l'anticorps, c'est-à-dire à la rapidité avec laquelle se fait leur rencontre. Toutes les fois que leur combinaison est gênée, ralentie, ou momentanément affaiblie, la crise anaphylactique fait défaut.

Or, le sérum coagulé, introduit dans l'organisme ne s'y dissout que très lentement, par petites fractions, lesquelles le vaccinent en même temps : on réalise ainsi, d'une manière différente, le procédé des injections subintrantes.

Le choc entre l'antigène et l'anticorps ou la sensibilisine n'a plus lieu. La réaction s'établissant d'une manière intermittente, on peut injecter, par exemple, dans la trachée d'un cobaye sensibilisé, une dose assez forte de sérum coagulé, sans pour cela produire le choc anaphylactique.

L'état physique d'un sérum est un facteur très important de la toxicité ; nous avons signalé dans le précédent chapitre que ce n'est pas le seul : la teneur en substances protéiques en est un autre.

Le sérum coagulé total contient des albumines capables de se solubiliser et des albumines coagulées ; ces dernières n'ayant aucune action au point de vue thérapeutique, comme nous le verrons plus bas, peuvent être rejetées. En pratique, on emploie en effet uniquement la partie liquide du sérum ou SÉRUM ÉPURÉ. On conçoit facilement qu'un tel sérum, qui contient une quantité d'albumine très inférieure à celle du sérum normal, soit proportionnellement moins toxique. On a donc été tenté de diminuer encore la teneur en albumine du sérum épuré, en le coagulant à plusieurs reprises. On espérait par là le rendre atoxique. C'est ce qui arrive lorsqu'on répète les épurations.

Si l'on prend du sérum épuré, que l'on a desséché dans le vide, puis dissout dans deux volumes d'eau,

puis coagulé à 60°, redesséché, et enfin additionné d'eau pour le ramener à son volume primitif, on obtient, après centrifugation, un liquide à peine coloré, qui est du sérum épuré deux fois.

On peut de nouveau soumettre ce sérum deux fois épuré à de nouvelles manipulations ; on obtiendra, après centrifugation, un liquide encore plus clair qui sera du sérum épuré trois fois.

Les expériences ont montré que plus le sérum était épuré, moins il était toxique. On tue, en effet, un cobaye, avec une dose intraveineuse de 0 cc, 3 de sérum épuré une fois. Il faut 0 cc, 5 et même 0 cc, 8 de sérum épuré deux fois, pour tuer un même animal.

La dose de sérum épuré trois fois devrait certainement être encore plus forte.

Nous dirons dans le prochain chapitre pourquoi on n'a pas retenu ce procédé des épurations répétées, qui au point de vue de la toxicité des sérums est excellent. Nous en montrerons les inconvénients.

VALEUR THÉRAPEUTIQUE DU SÉRUM ÉPURÉ AU POINT DE VUE EXPÉRIMENTAL

Après les constatations de Besredka, on a mis à exécution l'épuration des différents sérums employés en clinique.

Avant de livrer à la pratique courante ces sérums rendus très peu toxiques on a été obligé de procéder à des recherches préliminaires ayant pour but de préciser l'effet de l'épuration sur la valeur thérapeutique des sérums tant au point de vue curatif que préventif.

Des expériences de ce genre ont été faites sur des sérums antidiphtérique, antitétanique, anticholérique et antidysentérique. Nous ne parlerons ici que des sérums antitétanique, anticholérique et antidiphtérique, nous réservant de traiter du sérum antidiphtérique qui nous intéresse plus spécialement, dans le chapitre prochain.

Nous indiquerons la valeur thérapeutique de ces sérums, à savoir, avant tout, leurs propriétés antitoxiques, puis leurs propriétés antimicrobiennes, agglutinantes et autres.

1. — Sérum antitétanique

Des expériences relatives à ce sérum ont été faites sur des souris et des cobayes par Suzuki.

Cet auteur commença par doser la toxine tétanique ; celle-ci a été employée à des quantités croissantes de 0 cc, 001 à 0 cc, 000001.

Avec une dose de 0 cc, 001, le cobaye ne résiste qu'un jour ; avec 0 cc, 0001, l'animal meurt le 5e jour.

Chez les souris, on employa des doses croissantes de toxine : de 0 cc, 0005 à 0 cc, 0000005. Avec 0 cc, 0005, la souris meurt le 2e jour avec 0 cc, 00005, elle résiste. Il fut conclu que la dose minima mortelle de toxine, pour un cobaye de 250 gr. est de 0 cc, 0001 ; pour une souris de 25 gr. la dose mortelle est de 0 cc, 0005.

Pour se rendre compte de la valeur antitoxique des sérums, coagulés et épurés, par rapport au sérum du commerce, on a procédé de la façon suivante :

Le dosage de l'antitoxine a été fait, par le procédé de titrage *in-vitro*.

Il a été injecté, après un contact d'une heure, un mélange de cinq doses mortelles de toxine avec des sérums diversement dilués.

Dans une première série de cobayes, de 250 gr. environ, on s'est servi de sérum antitétanique du commerce. Jusqu'à la dose de 0 cc, 001, les animaux étaient protégés. Avec 0 cc, 00001, ils présentèrent du tétanos et avec 0 cc. 000001 ils ne résistèrent que 3 jours,

Antitoxine pour 250 gr.	Toxine pour 250 gr.	Poids	Antitoxine par rapport au poids	Toxine par rapport au poids	12									
					18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
0 cc. 1	0 cc. 0005													
0 cc. 01	0 cc. 0005	350 gr.	0 cc. 014	0 cc. 007	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 001	0 cc. 0005	280 gr.	0 cc. 00112	0 cc. 00056	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 0001	0 cc. 0005	350 gr.	0 cc. 00014	0 cc. 0007	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 00001	0 cc. 0005	410 gr.	0 cc. 0000104	0 cc. 0008	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet
0 cc. 000001	0 cc. 0005	310 gr.	0 cc 00000124	0 cc. 0006	V	V	V Tet	M						

Tet = Tétanos V = Vit M = Meurt

Le sérum antitétanique *coagulé* Besredka donna de meilleurs résultats : à la dose de o cc. 00001, les animaux ne présentèrent pas de tétanos. Ils survécurent 6 jours avec o cc. 000001 (voir le tableau II).

Tableau II. — **Sérum antitétaniqne coagulé Besredka**

Antitoxine pour 250 gr.	Toxine pour 250 gr.	Poids	Antitoxine par rapport au poids	Toxine par rapport au poids	12									
					18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
0 cc. 1	0 cc. 0005													
0 cc. 01	0 cc. 0005	340 gr.	0 cc. 0136	0 cc. 00068	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc 001	0 cc. 0005	320 gr.	0 cc. 00128	0 cc. 00064	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 0001	0 cc. 0005	365 gr.	0 cc. 000146	0 cc. 00073	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 00001	0 cc. 0005	300 gr.	0 cc. 000012	0 cc. 0006	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 000001	0 cc. 0005	532 gr.	0 cc. 0000021	0 cc. 01	V	V	V	V	V	V	M			

Le sérum épuré se montra 10 fois plus actif.

Suzuki se contenta d'enregistrer le fait sans l'expliquer.

TABLEAU III. — **Sérum antitétanique épuré Besredka** (partie liqui

ANTITOXINE pour 250 gr.	TOXINE pour 250 gr.	POIDS	ANTITOXINE par rapport au poids	TOXINE par rapport au poids	12								
					18	19	20	21	22	23	24	25	26
0 cc. 1	0 cc. 0005												
0 cc. 01	0 cc. 0005	322 gr.	0 cc. 01324	0 cc. 0006	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 001	0 cc 0005	320 gr.	0 cc. 00128	0 cc. 0006	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 0001	0 cc. 0005	490 gr.	0 cc 00016	0 cc. 0008	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 00001	0 cc 0005	420 gr.	0 cc. 000016	0 cc. 0008	V	V	V Tet	V Tet	V Tet	V	V	V	V
0 cc. 000001	0 cc. 0005	435 gr.	0 cc. 0000017	0 cc. 00087	V	V	V	V	V	V	V	V	V

Le sérum résiduel fut le moins actif.

TABLEAU IV. — **Sérum antitétanique résiduel** (partie solide).

ANTITOXINE pour 250 gr.	TOXINE pour 250 gr.	POIDS	ANTITOXINE par rapport au poids	TOXINE par rapport au poids	12								
					18	19	20	21	22	23	24	25	26
0 cc 1	0 cc. 0005	207 gr.	0 cc. 003	0 cc 0006	V	M							
0 cc. 01	0 cc. 0005	400 gr.	0 cc. 016	0 cc. 0008	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc 001	0 cc. 0005	205 gr.	0 cc. 00018	0 cc. 0004	V	M							
0 cc. 0001	0 cc. 0005	305 gr.	0 cc. 00012	0 cc. 0006	V	V	V	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet
0 cc. 00001	0 cc. 0005	360 gr.	0 cc. 00014	0 cc. 0007	V Tet	V	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet
0 cc. 000001	0 cc. 0005	305 gr.	0 cc. 0000012	0 cc. 0006	V	V	V	V	V	V Tet	V Tet	V Tet	V Tet

Les expériences faites sur des souris avec le même procédé (injections de doses 5 fois mortelle de toxine, soit 0 cc, 0005, mises en contact 1 heure avec des quantités croissantes de sérum diversement dilués) donnèrent des résultats analogues.

La valeur thérapeutique du sérum antitétanique épuré, est donc très légèrement supérieure à celle du sérum ordinaire.

2. — Sérum anticholérique

Les expériences faites par Vagliano à propos de ce sérum ont porté sur le pouvoir agglutinant et sur le pouvoir préventif.

A. — Valeur agglutinante du sérum épuré

Vagliano a utilisé un sérum anticholérique provenant de lapins auxquels il avait injecté, par voie intraveineuse, des doses croissantes de vibrions cholériques morts ou vivants. Le sérum agglutinait le vibrion cholérique à 1 pour 3.200.

A l'aide de ce sérum, desséché dans le vide sulfurique Vagliano prépare un sérum épuré contenant moins de la moitié de la quantité d'albumine du sérum normal soit 2 gr. 5 pour 40 cc. de sérum épuré (point de départ 5 gr. de sérum sec).

Le pouvoir agglutinant de ce sérum anticholérique épuré se montra exactement le même que celui du sérum anticholérique initial ; il agglutinait en effet à 1 pour 3.200.

B. — Valeur préventive du sérum anticholérique

Vagliano s'est servi d'un vibrion cholérique capable de tuer en 24 heures un cobaye de 350 gr. environ, vingt-quatre heures avant l'injection de vibrions, deux groupes d'animaux reçurent des doses croissantes de sérum, ordinaire pour les uns, épuré pour les autres. Puis on injecta par voie intrapéritonéale à tous les cobaye, 1/4 de culture de vibrions cholériques, âgée de 24 heures.

Voici quels sont les résultats :

TABLEAU I. — **Sérum ordinaire**

N°	POIDS	DOSE DE SÉRUM	CULTURE MICROBIENNE	5					
				12	13	14	15	16	17
61	350 gr.	1/10 cc	1/4	V	V	V	V	V	V
62	320 gr.	1/20 cc.	1/4	V	V	V	V	V	V
63	320 gr.	1/40 cc.	1/4	V	V	M			
T	300 gr.		1/4	V	M				

T = Témoin.

TABLEAU II. — **Sérum épuré**

N°	Poids	Dose de sérum	Culture microbienne	5					
				12	13	14	15	16	17
64	315 gr.	1/10 cc	1/4	V	V	V	V	V	V
65	370 gr.	1/20 cc.	1/4	V	V	V	V	V	V
66	340 gr.	1/40 cc.	1/4	V	V	V	M		

Il résulte de ces expériences, que les pouvoirs agglutinant et préventif du sérum anticholérique épuré, ne sont pas inférieurs à ceux du sérum ordinaire. Il a fallu, en effet, la même quantité de sérum épuré et de sérum ordinaire, pour préserver l'animal de la dose mortelle de vibrions cholériques.

D'autre part, nous avons pu constater que l'agglutination se faisait au même taux, avec l'un ou l'autre des deux sérums employés.

Par ces diverses expériences faites à propos de sérums fréquemment employés, nous voyons que les propriétés thérapeutiques des sérums épurés, ne sont pas, en général, diminuées. La température de 60° à laquelle ils sont préparés respecte donc bien, ainsi qu'on devait s'y attendre, ces propriétés thérapeutiques. De plus, fait très important, ces dernières diffusent presque entièrement dans la partie liquide du sérum épuré. Nous avons vu, en effet, d'une manière constante que la partie résiduelle ne possédait qu'une très faible valeur thé-

rapeutique. Mais, si la soustraction d'une moitié des albumines d'un sérum au moment de l'épuration, ne lèse pour ainsi dire pas, les propriétés thérapeutiques de ce sérum, il n'en est pas de même, pour une seconde manipulation. Chaque nouvelle épuration à laquelle on soumettra le sérum diminuera sa valeur thérapeutique.

Il a été signalé, au précédent chapitre, qu'à l'aide d'épurations répétés, on pourrait obtenir un sérum atoxique. Mais si la toxicité diminue proportionnellement à l'épuration, le pouvoir antitoxique baisse également, et si par exemple, o cc, 0008 de sérum normal, ou de sérum épuré antidiphtérique suffisent pour neutraliser deux doses mortelles de toxine diphtérique, il en faut 10 fois plus pour arriver à ce même résultat avec du sérum épuré deux et trois fois.

TABLEAU I. — **Sérum épuré 1 fois**

ANTITOXINE pour 250 gr.	TOXINE pour 250 gr.	ANTITOXINE par rapport au poids	TOXINE par rapport au poids	POIDS	4				
					5	6	7	8	9
0 cc. 008	0 cc. 02	0 cc. 0104	0 cc. 026	326 gr.	V	V	V	V	V
0 cc. 0308	0 cc. 02	0 cc. 0312	0 cc. 027	334 gr.	V	V	V	V	V
0 cc. 00008	0 cc. 02	0 cc. 000104	0 cc 026	326 gr.	M				
0 cc. 000008	0 cc. 02	0 cc. 000009	0 cc. 023	385 gr.	V	M			
0 cc 0000008	0 cc. 02	0 cc. 000001	0 cc. 027	343 gr.	M				

TABLEAU II. — **Sérum épuré 2 fois**

ANTITOXINE pour 250 gr.	TOXINE pour 250 gr.	ANTITOXINE par rapport au poids	TOXINE parrapport au poids	POIDS	4				
					10	11	12	13	14
0 cc. 008	0 cc. 02	0 cc. 0091	0 cc. 023	285 gr.	V	V	V	V	V
0 cc. 0008	0 cc. 02	0 cc. 001	0 cc. 025	315 gr.	V	M			
0 cc. 00008	0 cc. 02	0 cc. 000075	0 cc. 019	233 gr.	M				
0 cc. 000008	0 cc. 02	0 cc 0000074	0 cc. 019	234 gr.	V	M			
0 cc. 0000008	0 cc. 02	0 cc. 00000074	0 cc. 019	234 gr.	M				

TABLEAU III. — **Sérum épuré 3 fois**

ANTITOXINE pour 250 gr.	TOXINE pour 250 gr.	ANTITOXINE par rapport au poids	TOXINE parrapport au poids	POIDS	4				
					15	16	17	18	19
0 cc. 008	0 cc. 02	0 cc. 0124	0 cc. 031	334 gr	V	V	V	V	V
0 cc. 0008	0 cc. 02	0 cc. 00105	0 cc. 026	327 gr.	V	M			
0 cc. 00008	0 cc. 02	0 cc. 000105	0 cc. 035	327 gr.	V	M			
0 cc. 000008	0 cc. 02	0 cc. 0000103	0 cc. 026	322 gr.	V	M			
0 cc. 0000008	0 cc. 02	0 cc. 00000097	0 cc. 024	305 gr.	V	M			

C'est ce qui ressort des tableaux ci-dessus qui sont empruntés au travail de Suzuki.

Le sérum épuré plusieurs fois, est inutilisable ; en pratique, il faut donc se contenter du sérum épuré *1 fois*.

3. — Sérum antidysentérique épuré

En ce qui concerne ce sérum les résultats sont différents. Les travaux rapportés à ce sujet le démontrent. Schonfelder a expérimenté sur des souris blanches de 18 gr. environ ; il a étudié le pouvoir préventif de difrentes modalités de sérums antidysentériques : Sérum liquide du commerce, sérum desséché dilué au 1/10, sérum coagulé à 58° et dilué au 1/10, sérum épuré, sérum résiduel dilué au 1/10. Voici la technique employée :

On s'est servi d'une culture de Shiga sur gélose, âgée de 24 heures et diluée dans 10 cc. d'eau. La virulence de cette culture a été telle que la dose minima mortelle pour une souris a été de 0cc, 3.

Dans une première série d'expériences, les souris ont reçu dans le péritoine 0 cc, 3 de virus. Vingt-quatre heures avant il leur avait été injecté des doses croissantes des divers sérums précités. Voici quelles furent les quantités nécessaires des différents sérums pour préserver les souris de la mort :

Sérum liquide du commerce	0 cc, 0005
» desséché du commmerce.....	0 cc, 0005
» coagulé.....	0 cc, 0005
» épuré	0 cc, 01
» résiduel	0 cc, 05

Dans une seconde série d'expériences, la dose de virus injectée était 5 fois supérieure à celle des premières expériences ; 5 doses mortelles étaient représentées par 1 cc, 5 d'une culture émulsionnée dans 10 cc. d'eau.

Les quantités de sérum antidysentérique employées pour protéger les souris furent les suivantes :

Sérum liquide du commerce	0 cc, 00625
» desséché »	0 cc, 00625
» coagulé.....	0 cc, 025
» purifié.....	0 cc, 012
» résiduel	0 cc, 4

n'ont pas empêché la mort.

D'autres expériences ont été faites par Suzuki, dans des conditions absolument semblables à celles que nous venons de citer, voici ce qui a été obtenu :

Pour neutraliser une dose 5 fois mortelle de virus, et préserver les souris de la mort, il a fallu les quantités suivantes des différents sérums antidysentériques :

Sérum liquide du commerce	0 cc, 00625
» desséché du »	0 cc, 00625
» coagulé.....	0 cc, 025
» épuré.....	0 cc, 05
» résiduel	0 cc, 4

Nous avons fait nous-même et antérieurement, des expériences à ce sujet ; nos résultats concordent avec ceux de Suzuki.

Toutes ces données, de sources différentes, et pourtant concordantes, démontrent, que, en ce qui concerne le sérum antidysentérique, l'épuration porte

atteinte aux propriétés thérapeutiques ; elle lui enlève la moitié de son pouvoir préventif. La raison de ces faits nous échappe, nous ne pouvons que les constater.

LE SÉRUM ANTIDIPHTÉRIQUE ÉPURÉ AU POINT DE VUE EXPÉRIMENTAL

Le sérum antidiphtérique a une place prépondérante dans le domaine de la sérothérapie ; aussi nous avons voulu lui réserver un chapitre spécial.

Nous étudierons d'abord le sérum épuré, au point de vue expérimental ; nous nous étendrons ensuite sur sa valeur, au point de vue clinique.

Au cours des recherches sur le sérum épuré, on a constaté que l'antitoxine diphtérique, après purification mélangée avec de la toxine, garde son pouvoir neutralisant *in vitro*, dans les mêmes proportions que le sérum normal.

Les expériences de Suzuki ont porté sur les différentes modalités du sérum diphtérique : celui du commerce, le sérum coagulé, le sérum épuré de Besredka, le sérum résiduel.

Après avoir établi la dose de toxine minima mortelle, qui a été de 0 cc. 01 en injection sous-cutanée, pour un cobaye de 250 gr., on procéda au dosage de l'antitoxine ; c'est-à-dire qu'on chercha la quantité minima, nécessaire pour neutraliser 0 cc. 02 (deux doses mortelles) de toxine injectée.

Le dosage a été fait *in vitro*. Il a été préparé pour chacun des quatre sérums, 6 solutions ; de 0 cc. 08 à

avec la toxine pendant une heure. Les mélanges ont été ensuite injectés sous la peau des cobayes. Voici quels furent les résultats :

TABLEAU I. — **Sérum antidiphtérique du commerce**

ANTITOXINE pour 250 gr.	TOXINE pour 250 gr.	POIDS	ANTITOXINE par rapport au poids	TOXINE par rapport au poids	12									
					16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0 cc. 08	0 cc. 02													
0 cc. 008	0 cc. 02	345 gr.	0 cc. 011	0 cc. 0276	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc 0008	0 cc 02	325 gr.	0 cc. 00104	0 cc. 026	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 00008	0 cc 02	285 gr.	0 cc. 0000912	0 cc. 0228	M									
0 cc. 000008	0 cc. 02	242 gr	0 cc. 000007744	0 cc. 019	V	M								
0 cc. 0000008	0 cc. 02	290 gr.	0 cc. 000000928	0 cc. 023	V									

TABLEAU II. — **Sérum antidiphtérique coagulé Besredka**

ANTITOXINE pour 250 gr.	TOXINE pour 250 gr.	POIDS	ANTITOXINE par rapport au poids	TOXINE par rapport au poids	12									
					16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0 cc. 08	0 cc. 02	350 gr.	0 cc. 0224	0 cc. 028	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 008	0 cc. 02	290 gr.	0 cc. 00928	0 cc. 0232	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 0008	0 cc. 02	290 gr.	0 cc. 000928	0 cc. 0232	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 00008	0 cc 02	245 gr.	0 cc. 0000784	0 cc. 019	M									
0 cc 000008	0 cc. 02	222 gr.	0 cc. 0000071	0 cc. 0177	M									
0 cc. 0000008	0 cc. 02	250 gr.	0 cc. 0000008	0 cc. 02	M									

TABLEAU III. — **Sérum épuré** *(partie liquide)*

ANTITOXINE pour 250 gr.	TOXINE pour 250 gr.	POIDS	ANTITOXINE par rapport au poids	TOXINE par rapport au poids	12									
					16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0 cc. 08	0 cc. 02													
0 cc. 008	0 cc. 02	250 gr.	0 cc. 008	0 cc. 02	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 0008	0 cc. 02	232 gr.	0 cc. 00074	0 cc. 01085	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 00008	0 cc. 02	230 gr.	0 cc. 000073	0 cc. 018	M									
0 cc. 000008	0 cc. 02	210 gr.	0 cc. 0000067	0 cc. 017	M									
0 cc. 0000008	0 cc. 02	256 gr.	0 cc. 0000008	0 cc. 02	M									

TABLEAU IV. — **Sérum résiduel** *(partie solide)*

ANTITOXINE pour 250 gr.	TOXINE pour 250 gr.	POIDS	ANTITOXINE par rapport au poids	TOXINE par rapport au poids	12									
					16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
0 cc. 08	0 cc. 02	350 gr.	0 cc. 0224	0 cc. 028	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 008	0 cc. 02	230 gr.	0 cc. 0073	0 cc. 018	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0 cc. 0008	0 cc. 02	200 gr.	0 cc. 0006	0 cc. 016	M									
0 cc. 00008	0 cc. 02	250 gr.	0 cc. 00008	0 cc. 02	M									
0 cc 000008	0 cc. 02	207 gr.	0 cc. 0000066	0 cc. 016	M									
0 cc. 0000008	0 cc. 02	277 gr	0 cc. 00000088	0 cc. 022	M									

De ces expériences, comme de celles qui ont été faites à propos des sérums antitétanique et anticholérique, on est en droit de conclure que : les sérums coagulés et

épurés ont la même valeur thérapeutique, au point de vue antitoxique, que le sérum du commerce. La même quantité (0 cc. 0008) de ces deux sérums neutralise l a dose deux fois mortelle de toxine. On trouve encore ici à la partie résiduelle du sérum une très faible valeur thérapeutique.

Les recherches de Vagliano ont été faites, à l'aide du titrage *in vitro*, sur les propriétés antitoxiques et préventives du sérum.

Pour le dosage de l'antitoxine, on s'est servi de la méthode d'Erlich, qui consiste à prendre de la toxine stabilisée L + ; et à chercher, en faisant varier la qualité de sérum thérapeutique, à déterminer la dose minima qui, mélangée avec la toxine L + déterminée tuerait l'animal le 4e jour après l'injection. Cette dose d'antitoxine employée est l'*Unité antitoxique* ; et équivaut à 0 cc. 20.

Les expériences furent faites sur des cobayes de 250 grammes environ, auxquels on injecte en même temps que la toxine L + des doses croissantes de sérum ordinaire pour les uns, épuré pour les autres. (Tableaux I et II ci-contre).

Les résultats montrent que la valeur antitoxique du sérum épuré, dosée par le titrage *in vitro* d'après la méthode d'Erlich, est légèrement inférieure à celle du sérum initial. Ce dernier contient, en effet, comme nous le voyons en nous rapportant au tableau II, 250 unités antitoxiques par centimètre cube, alors que le sérum épuré n'en contient que 150 à 200.

TABLEAU I. — **Sérum normal du commerce**

N°	Poids	Solutions de sérum normal additionné de toxine L +	3					
			4	5	6	7	8	9
1	250 gr.	1/200 + L +	V	V	V	V	V	V
2	280 gr.	1/250 + L +	V	V	V	V	M	
3	265 gr	1/300 + L +	V	V	M			
4	255 gr.	1/350 + L +	V	V	M			

TABLEAU II. — **Sérum épuré**

N°	Poids	Solutions de sérum normal additionné de toxine L +	3					
			4	5	6	7	8	9
5	275 gr.	1/100 + L +	V	V	V	V	V	V
6	250 gr.	1/150 + L +	V	V	V	V	M	
7	230 gr.	1/200 + L +	V	V	V	V	M	
8	245 gr.	1/250 + L +	V	V	M			
9	260 gr.	1/300 + L +	V	V	M			

On a pensé qu'il serait intéressant d'examiner le pouvoir préventif du sérum antidiphtérique épuré, étant donné que l'on discute vivement aujourd'hui pour savoir si le nombre d'unités antitoxiques est en rapport direct avec la valeur thérapeutique d'un sérum.

Des expériences ont été faites de la façon suivante :

On s'est servi d'une part de cobayes pesant de 450 à 500 gr., d'autre part, de la souche microbienne diphtérique américaine de l'Institut Pasteur.

On prit de jeunes cultures de 24 heures, qui, après avoir été rendues aussi homogènes que possible, étaient injectées, en quantités variables, sous la peau des animaux. On est arrivé, par tâtonnements, à déterminer une dose mortelle, représentée par 5/20 de cc. d'une de ces jeunes cultures. Avec cette dose, la mort survenait au bout de 36 à 48 heures. A l'autopsie des cobayes, on constatait les lésions classiques de l'intoxication diphtérique.

On injecte à une première série de cobayes, 24 heures avant l'inoculation de la dose mortelle de culture microbienne (5/20 de cc.), des doses croissantes de sérum antidiphtérique ordinaire.

Les résultats furent démonstratifs, voir le tableau I ci-contre.

Nous voyons que les animaux qui ont été injectés préalablement avec une quantité de sérum ordinaire de 0 cc. 006 et au-dessus sont préservés de la mort.

Dans une seconde série de cobayes, on recommenca la même expérience en se servant du même sérum diphtérique provenant du même cheval, mais cette fois épuré. Voici ce qu'on obtint, voir le tableau II.

TABLEAU I. — **Sérum ordinaire**

N°	POIDS	3/6 DOSES DE SÉRUM ORDINAIRE	CULTURE MICRO-BIENNE	6						
				4	5	6	7	8	9	10
1	455 gr.	0 cc. 0001	5/20	V	V	M				
2	520 gr.	0 cc. 001	5/20	V	V	V	V	M		
3	500 gr.	0 cc. 006	5/20	V	V	V	V	V	V	V
4	480 gr.	0 cc 007	5/20	V	V	V	V	V	V	V
T	515 gr.		5/20	V	V	M				

T = Témoin.

TABLEAU II. — **Sérum épuré**

N°	POIDS	3/6 DOSES DE SÉRUM ÉPURÉ	CULTURE MICRO-BIENNE	6					
				4	5	6	7	8	9
5	450 gr.	0 cc. 0001	5/20	V	V	M			
6	500 gr.	0 cc. 001	5/20	V	V	M			
7	510 gr.	0 cc. 006	5/20	V	V	V	M		
8	480 gr.	0 cc. 007	5/20	V	V	V	V	M	
9	490 gr.	0 cc. 008	5/20	V	V	V	V	V	V

Les cobayes ayant reçu des doses de 0 cc, 006 à 0 cc, 008, ont été préservés de la mort.

Nous pouvons conclure de ces expériences que le pouvoir préventif est sensiblement le même que l'on s'adresse au sérum ordinaire ou au sérum épuré.

VALEUR DU SÉRUM ANTIDIPHTÉRIQUE ÉPURÉ AU POINT DE VUE CLINIQUE

Il restait à voir si, en clinique, on pouvait réaliser ce que les résultats expérimentaux laissaient espérer.

Nous allons étudier successivement les propriétés préventives, et le pouvoir toxique en clinique du sérum antidiphtérique épuré.

Propriétés thérapeutiques.

La question de la valeur thérapeutique du sérum antidiphtérique épuré n'a pu être étudiée en clinique sur une grande échelle, étant donné la gravité de la maladie qui ne permet pas les essais.

De plus, la quantité de sérum épuré Besredka, préparé par Vagliano, n'était pas suffisante, en raison des difficultés matérielles, pour entreprendre des expériences de ce genre, étant donné les hautes doses qu'il fallait injecter. D'ailleurs, dès qu'on est obligé d'utiliser des doses massives, l'épuration du sérum diminue d'intérêt.

Malgré les difficultés que nous venons de signaler, quelques cas de diphtérie ont été traités par le sérum épuré, et les résultats obtenus ont été très nets.

Il est difficile de juger de l'action du sérum sur la durée de la maladie, mais on peut affirmer qu'il agit favorablement sur l'état général, et d'une façon particulièrement efficace sur l'évolution des phénomènes locaux : on constate, en effet, la disparition rapide des fausses membranes.

On peut préjuger de ceci que la valeur thérapeutique du sérum épuré n'est pas inférieure à celle du sérum correspondant ordinaire.

Propriétés préventives

On a surtout obtenu en clinique des résultats au point de vue préventif. On devait s'attendre à ce qu'ils soient bons en ce qui concerne les acccidents sériques, étant donné la petite quantité d'albumine injectée nécessaire pour la prophylaxie.

On a préparé dernièrement, à l'Institut Pasteur, un sérum qui contient des traces d'albumine et des antitoxines en quantité convenable. Ce sérum est clair comme de l'eau ; il est très concentré au point de vue des antitoxines diphtériques, mais il laisse fort à désirer, quant aux propriétés préventives.

M. Lesné, à l'hôpital Trousseau, a expérimenté ce sérum sur 125 enfants, qui vivaient avec des sujets atteints de diphtérie ; aucun d'eux ne fut contaminé.

Pouvoir toxique

En ce qui concerne le pouvoir toxique du sérum épuré, il y a lieu d'étudier séparément les accidents anaphy-

lactiques et la maladie sérique. Pour les premiers, nous concluons, d'une façon formelle, que le sérum épuré en provoque rarement ; quand ils existent, ils sont toujours de très faible intensité.

Pour ce qui est de la maladie sérique, les résultats sont variables suivant les sérums utilisés. Voici quelques résultats obtenus avec le sérum Besredka employé à titre préventif. Sur 50 enfants, on a injecté à 25 du sérum antidiphtérique ordinaire, aux autres du sérum épuré. On a constaté que, sur les 25 enfants traités par le sérum épuré, 20 n'avaient présenté aucun accident sérique, 2 une éruption fugace, et un une éruption généralisée durant trois jours. Or, cet enfant, à propos de l'ingestion de poisson a eu, à plusieurs reprises, des éruptions urticariennes. Sur les 25 enfants, traités par le sérum antidiphtérique ordinaire, 22 eurent des accidents sériques, d'intensité variable, mais le plus souvent très prononcés. Les 3 autres enfants ne présentèrent rien. On peut donc conclure que la toxicité du sérum épuré Besredka est très inférieure à celle du sérum ordinaire correspondant.

Si l'on emploie ce sérum au point de vue curatif, les résultats sont moins brillants, les accidents sont toutefois légers mais existent sensiblement dans la même proportion qu'avec le sérum normal.

En ce qui concerne le sérum épuré Martin, M. Lesné a constaté que, sur les 125 enfants dont nous avons parlé, ayant été injectés avec ce sérum dans un but prophylactique, aucun n'avait présenté d'accident sérique. De plus, fait très intéressant, 6 de ses enfants eurent

quelques mois plus tard la diphtérie ; ils furent à ce moment soignés avec du sérum antidiphtérique ordinaire et on ne constata pas chez eux de troubles anaphylactiques. Le sérum épuré Martin semble donc bien ne pas sensibiliser l'organisme vis-à-vis d'une nouvelle injection de sérum.

REVUE D'ENSEMBLE

Les troubles sériques, qu'il s'agisse du choc anaphylactique ou de la maladie sérique, sont dus à la présence des albumines contenues dans le sérum injecté.

On s'est efforcé de débarrasser le sérum de la plus grande partie de ses substances protéiques. Les premiers essais furent faits par Besredka ; il aboutit à la préparation d'un sérum qui possède moins que la moitié des albumines contenues dans le sérum d'origine. Le nouveau sérum antidiptérique préparé par Martin ne recèle que des traces d'albumine.

Les résultats expérimentaux obtenus avec les sérums épurés, quant aux troubles anaphylactiques généraux ou locaux, ont été excellents ; les animaux n'en présentent pas.

Pour ce qui est de la maladie sérique, l'expérimentation sur l'animal est impossible ; on est obligé de s'adresser à la clinique, qui nous apprend (pour le sérum antidiphtérique par exemple) qu'avec le sérum Besredka, les accidents sont très rares, avec le sérum Martin plus rares encore, sinon absents.

Ceci est vrai si l'on se contente de petites doses de sérum épuré. Si, au contraire, on emploie de fortes doses

on provoque souvent des accidents. En injectant des doses massives de sérum épuré, on finit, en effet, par introduire dans l'organisme une quantité élevée d'albumine.

Au point de vue thérapeutique, nous ne pouvons tabler que sur des expériences faites sur l'animal à propos des sérums antitétanique, antidiphtérique, anticholérique.

Or, nous avons constaté que les propriétés antitoxiques surtout étaient à peu près intégralement conservées dans ces sérums, dont la plus grande partie des albumines est enlevée. Nous l'avons expliqué en montrant que les propriétés thérapeutiques se retrouvent presque entièrement dans la partie liquide du sérum épuré.

En ce qui concerne le pouvoir préventif, nous avons vu qu'on obtenait expérimentalement de bons résultats. En clinique, les donnés sont trop peu nombreuses pour permettre de tirer une conclusion. Cependant, pour ce qui est de la diphtérie, par exemple, l'injection de sérum antidiphtérique, épuré, permet d'obtenir une réaction de Schick négative durant quelques jours ; ceci invite à penser qu'on peut créer, avec ce sérum, une certaine immunité.

Il est à souhaiter que les cliniciens accordent à la question de l'épuration des sérums tout l'intérêt qu'elle comporte, qu'ils fassent à l'aide de sérums épurés de nombreuses expériences, et qu'ils contribuent à éclairer le problème.

CONCLUSIONS

I. — L'organisme, sensibilisé par une première injection de sérum, réagit lors d'une seconde injection et présente souvent un ensemble de troubles, que l'on désigne sous le nom d'accidents anaphylactiques.

II. — La coagulation à 60° du sérum, concentré dans la proportion de 1 pour 2, permet de le débarrasser de plus de 50 % de ces substances protéiques. On obtient par ce procédé un sérum épuré (Besredka).

III. — Le sérum épuré a un pouvoir toxique 5 fois inférieur à celui du sérum initial au point de vue expérimental. Plus les épurations sont répétées, moins le sérum est toxique.

IV. — La valeur thérapeutique et préventive du sérum épuré, d'après le procédé de Besredka est sensiblement la même que celle du sérum initial. Le fait a été démontré expérimentalement pour les sérums anticholérique, antitétanique, antidiphtérique ; et cliniquement en ce qui concerne le pouvoir préventif du sérum antidiphtérique épuré, sous réserve toutefois, par suite du petit nombre de cas traités.

Vu, le Doyen,
H. ROGER.

Vu le Président,
H. ROGER.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris
LAPIE.

BIBLIOGRAPHIE

A. Besredka. — Comment empêcher l'anaphylaxie (*Revue de la Société de Biologie*, 8 juin 1907, t. LXII, p 1053).

A. Besredka — Moyens d'éviter les accidents anaphylactiques (*Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, 30 mai 1910, t. CL, p. 1156).

A. Besredka. — Essai d épuration des sérums thérapeutiques (*Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, 28 juin 1920, t. CLXX, p. 1628).

A. Besredka. — Etude sur l'anaphylaxie. Coagulation et purification des sérums (*Annales de l'Institut Pasteur*, nov, 1923, t. XXXVII, p. 935).

E. Lesné. — Prophylaxie des accidents sériques par l'emploi d'un sérum privé de ses albumines (*Bulletins et Mémoires de la Société médicale des hôpitaux*, 30 mai 1924, t. XLVIII, p. 798).

Schoufelder (de Christiana). — Sérum antidysentérique coagulé, épuré, résiduel (*Annales de l'Institut Pasteur*, nov. 1923, t. XXXVII, p. 941).

T. Suzuki. — Sérum antidysentérique épuré (*Journal of oriental médecine*, nov. 1924, p 279).

T. Suzuki.— Sérums antidiphtérique et antitétanique épurés par le procédé de Besredka (*Journal of oriental medecine*, 30 mai 1923, p. 39-50).

M Vagliano. — Du sérum anticholérique épuré (*Annales de l'Institut Pasteur*, nov. 1923 t. XXXVII, p. 943).

M. Vagliano. — De l'anaphylaxie sérique expérimentale (*Thèse Paris*, 1924).

1925. Saint-Amand (Cher) — Imp. A. CLERC.